

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
12 juillet 2001 (12.07.2001)

PCT

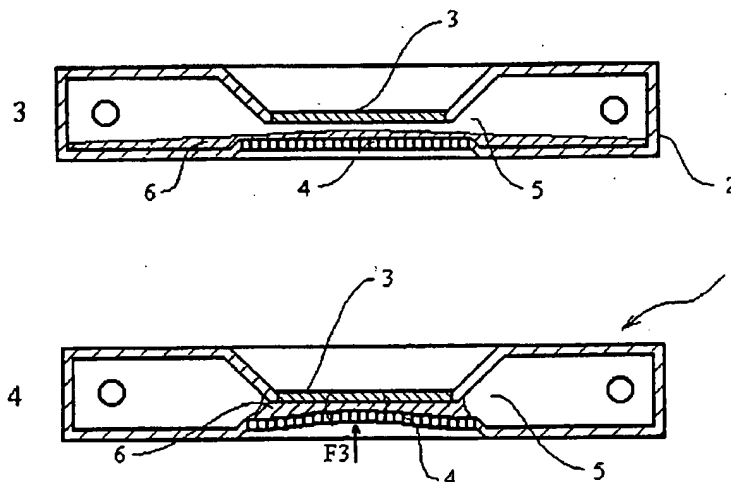
(10) Numéro de publication internationale
WO 01/49413 A1

- (51) Classification internationale des brevets⁷: B01L 3/00, B01F 11/00, 13/00
- (21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/03705
- (22) Date de dépôt international:
28 décembre 2000 (28.12.2000)
- (25) Langue de dépôt: français
- (26) Langue de publication: français
- (30) Données relatives à la priorité:
99/16616 29 décembre 1999 (29.12.1999) FR
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US):
BIOMERIEUX S.A. [FR/FR]; Chemin de l'Orme,
F-69280 Marcy l'Etoile (FR).
- (72) Inventeur; et
(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement): COLIN,
Bruno [FR/FR]; 23, chemin des Garennes, F-69280
Marcy l'Etoile (FR).
- (74) Mandataire: BONNEAU, Gérard; Cabinet Bonneau,
Les Taissounières HB3, 1681, route des Dolines, F-06560
Sophia Antipolis (FR).
- (81) États désignés (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: ANALYSIS EQUIPMENT HAVING WITH VARIABLE GEOMETRY REACTION COMPARTMENT, METHOD FOR MIXING AND GUIDING LIQUIDS

(54) Titre: APPAREIL D'ANALYSE A COMPARTIMENT REACTIONNEL A GEOMETRIE VARIABLE, PROCEDE DE MIXAGE ET DE GUIDAGE DE LIQUIDES



(57) Abstract: The invention concerns an analysis equipment (1) for implementing a method which consists in mixing and contacting, and a method for mixing and contacting a biological sample to be tested (6) but also a washing liquid on said analysis equipment (1). The invention also concerns a method for guiding liquids inside an analysis equipment. It consists in an analysis equipment (1) essentially formed by a container (2) a biochip (3) and means, which can be displaced and/or deformed, called mixing means (4); the container (2), the chip (3) and the means (4) define a reaction compartment (5) with variable volume, capable of receiving a biological sample to be tested (6) or a washing liquid, the chip (3) consisting of a solid support including ligands on its active surface facing the reaction compartment (5), the ligands can be specific analytes present in the biological sample to be tested (6). The invention is applicable in particular in the field of diagnosis.

[Suite sur la page suivante]

WO 01/49413 A1

BEST AVAILABLE COPY



LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Publiée:

— Avec rapport de recherche internationale.

- (84) États désignés (régional): brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) **Abbrégé:** La présente invention concerne un appareil d'analyse (1) permettant la mise en oeuvre d'un procédé de mélange et de mise en contact, ainsi qu'un tel procédé de mélange et de mise en contact d'un échantillon biologique à tester (6) mais également d'un liquide de lavage sur cet appareil d'analyse (1). L'invention concerne également un procédé de guidage de liquides au sein d'un appareil d'analyse. Elle consiste en un appareil d'analyse (1) essentiellement constitué d'un contenant (2), d'une puce biologique (3) et d'un moyen, qui peut être déplacé et/ou déformé, dit moyen de mixage (4); le contenant (2), la puce (3) et le moyen (4) délimitent un compartiment réactionnel (5) de volume variable, pouvant recevoir un échantillon biologique à tester (6) ou un liquide de lavage, la puce (3) étant constituée d'un support solide qui comporte des ligands sur sa face active tournée vers le compartiment réactionnel (5), les ligands peuvent être spécifiques d'analytes présents dans l'échantillon biologique à tester (6). L'invention trouve une application préférentielle dans le domaine du diagnostic.

Appareil d'analyse à compartiment réactionnel à géométrie variable, procédé de mixage et de guidage de liquides

DESCRIPTION

5

La présente invention concerne un appareil d'analyse permettant la mise en œuvre d'un procédé de mélange et de mise en contact ainsi qu'un tel procédé de mélange et de mise en contact d'un échantillon biologique à tester mais également d'un liquide de lavage sur cet appareil d'analyse. L'invention concerne également un
10 procédé de guidage de liquides au sein d'un appareil d'analyse. L'appareil d'analyse comprend essentiellement une puce biologique et un contenant, ladite puce ayant une structure et étant fixée au contenant de telle manière que le procédé de mélange peut être effectué.

15

*L'état de la technique est constitué par le document WO-A-95/33846 qui décrit un consommable pour effectuer des analyses biologiques, dans lequel une puce à ADN est fixée sur un support plastique. Cette puce à ADN, de forme parallélépipédique, comprend deux faces opposées et circonscrit une cavité d'analyse présente au sein du consommable. Sur l'une de ses faces, qui est tournée vers la cavité, un grand nombre,
20 généralement plusieurs milliers jusqu'à plusieurs centaines de milliers, d'oligonucléotides est positionné à des endroits prédéterminés. Cette face constitue la face active de la puce à ADN, et les oligonucléotides portés par la puce à ADN font office de sondes de capture pour des oligonucléotides complémentaires en solution dans l'échantillon testé. En fonction de la position des hybridations réalisées, il est
25 possible de déterminer la nature des oligonucléotides présents dans l'échantillon biologique de départ.*

L'inconvénient essentiel de ce type de consommable réside dans le volume relativement important de la cavité qui va permettre le transit et le contact de l'échantillon à tester, ainsi que le liquide de lavage, avec la puce biologique ou biopuce.
30 Sachant que l'épaisseur de la couche d'oligonucléotides de capture, ou couche de ligands, portée par ladite puce biologique est de quelques dizaines de nanomètres alors

que l'épaisseur de la lame liquide constituée par l'échantillon à tester au sein de la cavité est de quelques millimètres, il existe un rapport de un (1) pour dix mille (10000) entre ces épaisseurs. Il n'est donc pas évident que l'hybridation des oligonucléotides en solution sur les oligonucléotides de capture s'effectue aisément, il convient donc
5 d'augmenter le temps de mise en contact entre ledit échantillon et la puce et d'effectuer une agitation permanente de cet échantillon afin que tous les oligonucléotides libres aient une opportunité de s'hybrider sur la puce biologique, si tant est qu'un oligonucléotide de capture complémentaire existe. Ceci induit donc, d'une part, une durée de mélange relativement longue, ce qui est incompatible avec la rapidité des
10 analyses biologiques attendue par l'emploi de puces biologiques, et d'autre part, une machinerie plus importante, volumineuse et coûteuse autour de la puce à ADN, afin de faciliter le mélange, qui ne doit pas être trop fort pour ne pas arracher les oligonucléotides de capture, ni trop faible ce qui peut réduire les possibilités d'hybridation.

15 *La demande de brevet EP-A-0.891.811 concerne un procédé et un appareil pour mélanger un film mince de liquide. La solution technique proposée par ce document consiste à éloigner la surface flexible de la surface de la chambre fluidique, ce qui augmente l'espace et concentre le liquide au point où l'épaisseur est la plus forte.*

Néanmoins, ce principe est différent de ce que nous proposons puisque le
20 déposant éloigne et non rapproche la surface flexible de la surface de la chambre fluidique. Cette caractéristique de rapprochement des surface dans le cas de notre invention est particulièrement intéressante car il s'agit d'une déformation :

- plus aisée à réaliser avec moins de risque de destruction,
- utilisable avec de plus petit volume de liquide, et
- 25 • sans ouverture directe sur l'extérieur, ce qui est préjudiciable pour les traitements à effectuer sur des acides nucléiques.

*Le document US-A-5.658.723 propose un appareil d'immuno-dosages utilisant des courants de convection forcés. Au sein d'un volume réactionnel, et selon un premier mode de réalisation (figure 31), un écran paramagnétique est présent et peut subir une
30 déformation translationnelle ou pliage. L'excitation de l'écran est réalisée par des électro-aimants connectés à une source de puissance électrique.*

Contrairement à notre invention, cet écran ne délimite pas le volume réactionnel, une déformation par simple pression mécanique n'est donc pas possible.

Pourtant un deuxième mode de réalisation (figure 32), plus pertinent, est présenté dans lequel l'écran est remplacé par un aimant permanent situé à l'extérieur du volume réactionnel, qui délimite ainsi indirectement le volume réactionnel, d'ailleurs le couvercle bouge en même temps que l'aimant. De plus, il est prévu que le couvercle et l'aimant ne fasse qu'un. Selon un troisième mode de réalisation (figure 33), un solénoïde avec un piston et une bobine est utilisé. Le piston déforme le couvercle. Un quatrième mode de réalisation (figure 34) utilise un doigt presseur porté par un disque. Enfin le cinquième mode, non représenté sur les figures, est constitué par un couvercle constitué par un matériau piézo-électrique ou contenant un tel matériau.

Une différence importante existe, elle réside dans le fait que selon ces modes de réalisation, l'espace réactionnel est entièrement rempli par le liquide, alors que notre quantité de liquide est très inférieur au volume total du compartiment réactionnelle. Une fois encore, notre invention est particulièrement adapté aux traitements des acides nucléiques.

Un brevet US-A-4.007.010 a pour objet un appareil pour tester des échantillons fluidiques. Celui-ci a une forme de sandwich avec une couche supérieure et une couche inférieure. Ces deux couches sont liées l'une à l'autre par un fin film de liquide. Il est ainsi possible en éloignant les deux couches d'avoir des cloques contenant du liquide.

Ce document exclut la présence d'air entre lesdites couches, comme indiqué dans sa description en colonne 4 lignes 64 à 67. De plus, l'appareil selon notre invention précise bien que le moyen de guidage déformé entraîne le rapprochement dudit moyen par rapport à la face active du support et permet la prise en compte et le déplacement d'un échantillon biologique à tester et/ou d'un réactif.

Enfin, le US-A-5.856.174 traite d'un dispositif de diagnostic à acides nucléiques intégrés, pouvant contenir une chambre réactionnelle, également chambre d'hybridation, où est mixé un liquide.

Ce document n'est pas pertinent car la chambre n'est pas à volume variable, le mélange est simplement réalisé par un élément PZT, constitué de cuivre, zirconium et

titane, en contact avec la face externe de ladite chambre. Cet élément agit par vibrations soniques.

La présente invention évite ces inconvénients en proposant un appareil d'analyse permettant la mise en œuvre d'un procédé de mélange et de mise en contact ainsi qu'un tel procédé de mélange et de mise en contact d'un échantillon biologique à tester sur cet appareil d'analyse. Le volume de la chambre réactionnelle est faible et l'agitation de l'échantillon à tester, qui contient les analytes, est optimisé. Mais ce principe, développé pour le mélange et la mise en contact, peut aussi être mis en œuvre dans un procédé pour permettre le déplacement de liquides au sein d'un appareil d'analyse.

Un certain nombre de termes utilisés dans la présente invention est explicité ci-dessous.

Par « appareil d'analyse », on entend tout appareil permettant l'analyse d'un échantillon liquide ou gazeux ou de plusieurs échantillons liquides ou gazeux différents, dans lequel on cherche à identifier un ou plusieurs analytes selon tous les processus simples ou complexes d'analyse mettant en jeu un ou plusieurs réactifs différents selon la nature chimique, physique ou biologique du ou des analytes recherchés. Les principes techniques définis ci-après ne sont pas limités à un analyte particulier, la seule condition requise étant que l'analyte soit distribué dans l'échantillon à analyser en suspension ou en solution. En particulier, le processus d'analyse mis en œuvre peut être effectué, sous forme homogène ou hétérogène ou mixte. Un exemple d'application des techniques d'analyse concerne les immuno-essais, quelque soit leur format, par analyse directe ou par compétition. Un autre exemple d'application concerne la détection et/ou la quantification d'acides nucléiques comprenant l'ensemble des opérations nécessaires à cette détection et/ou cette quantification à partir d'un prélèvement quelconque contenant les acides nucléiques cibles. Parmi ces différentes opérations on peut citer la lyse, la fluidification, la concentration, les étapes d'amplification enzymatique des acides nucléiques, les étapes de détection incorporant une étape d'hybridation. La demande de brevet WO-A-97/02357 ou la demande de brevet déposée par la demanderesse sous le numéro FR99/00111, dont le contenu de la

description est incorporé dans la présente demande, explicite différentes étapes nécessaires dans le cas d'analyse d'acides nucléiques.

Par « puce biologique » ou « biopuce », on entend tout support solide sur lequel sont fixés des ligands. La fixation des ligands peut être réalisée de différentes manières et notamment par adsorption ou covalence, comme par exemple, la synthèse in situ par les techniques de photolithographie ou par un système piézo-électrique, par dépôt capillaire de ligands préformés. A titre d'illustration, des exemples de ces biopuces sont donnés dans les publications de G. Ramsay, *Nature Biotechnology*, 16, p40-44, 1998; F. Ginot, *Human Mutation*, 10, p1-10, 1997 ; J. Cheng et al, *Molecular diagnosis*, 1(3), p183-200, 1996 ; T. Livache et al, *Nucleic Acids Research*, 22(15), p2915-2921, 1994 ; J. Cheng et al, *Nature Biotechnology*, 16, p541-546, 1998 ou dans les brevets US-A-4,981,783 (Augenlicht), US-A-5,700,637 (Southern), US-A-5,445,934 (Fodor), US-A-5,744,305 (Fodor), US-A-5,807,522 (Brown).

Par « ligand », on entend toute espèce biologique ou chimique susceptible de réagir spécifiquement avec un récepteur présent sur l'analyte. A titre d'exemple de ligand on peut citer un antigène, un fragment d'antigène, un peptide, un anticorps, un fragment d'anticorps, un haptène, un acide nucléique, un fragment d'acide nucléique, un polynucléotide, une hormone, une vitamine, un sucre, un polysaccharide, un chélateur, une drogue, un cofacteur, une molécule chimique capable de lier par covalence ou par adsorption. Avantagusement les ligands fixés sur la biopuce sont des acides nucléiques, et préférentiellement des oligonucléotides, et sont fixés sur la biopuce par couplage covalent. Dans un mode préférentiel de réalisation, au moins 400 séquences différentes d'oligonucléotides et préférentiellement au moins 1000 sont fixées par cm^2 du support solide de la biopuce. L'ensemble de ligands constitue la couche bio-spécifique.

La puce biologique doit être adapté à la fixation des ligands. Des matériaux naturels ou de synthèse, modifiés ou non chimiquement peuvent être utilisés comme support solide, notamment des polymères, tels que polychlorures de vinyle, polyéthylènes, polystyrènes, polyacrylates, polyamides ou des copolymères à base de monomères du type styrène, esters d'acides carboxyliques insaturés, chlorure de vinylidène, diènes ou composés présentant des fonctions nitrile (comme l'acrylonitrile),

des matériaux inorganiques tels que la silice, le quartz, des verres, des céramiques ; des dérivés métalliques. En particulier, le support solide est réalisé en matériau non poreux. Dans un mode particulier de réalisation, le support solide est réalisé dans un matériau perméable à la lumière et notamment le verre ou dérivés.

5 La biopuce possède une forme quelconque en trois dimensions dans lequel deux surfaces sensiblement planes sont présentes, une surface dite active sur laquelle sont fixés les ligands et une surface opposée. La surface active et la surface opposée sont reliées par une surface ou un ensemble de surfaces. Dans un mode de réalisation particulier la surface opposée est sensiblement parallèle à la surface active.
10 Avantageusement, la biopuce est un parallélépipède à base rectangulaire ou carrée, de préférence carrée, dont la surface active est inférieure à 100 mm^2 et avantageusement inférieure à 65 mm^2 et préférentiellement inférieure à 30 mm^2 , et dont l'épaisseur est inférieure à 5 mm, et avantageusement inférieure à 1 mm.

Par « contenant », on entend une pièce ou un ensemble de pièces permettant de
15 mettre en œuvre l'analyse et sur lequel est fixé la biopuce. Notamment, ce contenant doit permettre l'introduction d'un fluide et notamment du liquide dans lequel se trouve le ou les analytes à analyser. Dans un mode préférentiel de réalisation, le contenant est dans un matériau plastique tel que le polypropylène ou le polystyrène ou polycarbonate, et il est obtenu par moulage ou par extrusion.

20 Par « compartiment réactionnel », il faut comprendre un espace délimité par le contenant et la biopuce. Le compartiment réactionnel favorise la réaction entre les ligands et le ou les analytes. La fixation de la biopuce sur le contenant assure l'étanchéité du compartiment réactionnel. Préférentiellement, la surface active est tournée à l'intérieur du contenant pour permettre le contact entre le milieu liquide dont
25 on veut analyser le contenu et les ligands fixés sur cette surface active et la surface opposée est tournée vers l'extérieur du contenant. A titre d'exemple, ce contenant est un consommable à usage unique tel que décrit dans les demandes de brevet WO-A-95/33846, WO-A-97/02357 et WO-A-97/27324, ou dans les demandes de brevet de la demanderesse FR96/07381, FR99/03032, FR99/03033, FR99/03034 et FR99/03035. Le
30 contenu de la description de ces demandes de brevet est considéré comme incorporé dans la description de la présente demande de brevet.

En fait selon l'invention, le compartiment réactionnel est délimité par le contenant et la puce biologique, ainsi que par un moyen permettant le mélange de la solution au niveau du compartiment réactionnel, afin de permettre le contact des analytes avec les ligands. Ce moyen permettant le mélange est également appelé
5 mélangeur, il peut être de structure solide ou souple. Un « mélangeur solide » est un élément qui peut être déplacé par rapport au contenant afin de faire varier le volume du compartiment réactionnel. Un « mélangeur souple » est un élément qui peut être déformé par rapport au contenant afin de faire varier le volume du compartiment réactionnel. Il est également possible d'avoir un « mélangeur solide et souple », dans ce
10 cas l'élément peut être déplacé et déformé par rapport au contenant afin de faire varier le volume du compartiment réactionnel.

A l'instar du support constituant la biopuce, le mélangeur solide est un parallélépipède à base rectangulaire ou carrée, de dimension supérieure ou égale à ladite biopuce, de préférence il est de forme carrée, dont la surface fonctionnelle est inférieure
15 à 400 mm^2 et avantageusement inférieure à 200 mm^2 et préférentiellement inférieure à 100 mm^2 , et dont l'épaisseur est inférieure à 5 mm, et avantageusement inférieure à 1 mm. Les matières constituant ce mélangeur solide peuvent être identiques à ceux constituant le support de la puce biologique, néanmoins ils peuvent également être constitués par des matériaux plastiques, tel que le polypropylène ou le polystyrène ou polycarbonate, des matériaux céramiques ou des matériaux métalliques, inox ou
20 aluminium par exemple.

En ce qui concerne le mélangeur souple, celui-ci est également un parallélépipède à base rectangulaire ou carrée, de dimension supérieure ou égale à ladite biopuce, de préférence il est de forme carrée, dont la surface fonctionnelle est inférieure
25 à 400 mm^2 et avantageusement inférieure à 200 mm^2 et préférentiellement inférieure à 100 mm^2 , et dont l'épaisseur est inférieure à 5 mm, et avantageusement inférieure à 1 mm. Les matières constituant ce mélangeur souple sont constitués par des films plastiques, tel que le polypropylène ou le polystyrène ou polycarbonate, des films polymères, comme le silicone, ou des films métalliques, par exemple en aluminium.

A cet effet, la présente invention concerne un appareil d'analyse essentiellement constitué d'un contenant, d'une puce biologique et d'un moyen, qui peut être déplacé et/ou déformé, dit moyen de mixage, le déplacement et/ou la déformation entraîne(nt) le rapprochement du moyen de mixage par rapport à la puce biologique ; le contenant, la puce et le moyen délimitent un compartiment réactionnel de volume variable, pouvant recevoir un échantillon biologique à tester ou un liquide de lavage, la quantité de liquide introduite au sein de l'appareil au niveau du compartiment réactionnel est inférieure au volume total de ce compartiment réactionnel ; la puce étant constituée d'un support solide qui comporte des ligands sur sa face active tournée vers le compartiment réactionnel, les ligands peuvent être spécifiques d'analytes présents dans l'échantillon biologique à tester.

Selon une variante préférentielle de réalisation, le moyen de mixage est de structure solide ou de structure souple et peut être déplacé et/ou déformé, ce qui entraîne la variation du volume du compartiment réactionnel.

Selon une variante préférentielle de réalisation, le moyen de mixage de structure solide peut être déplacé, et le moyen de mixage de structure souple peut être déformé.

Dans tous les cas de figures, le déplacement et/ou la déformation entraîne(nt) le rapprochement du moyen de mixage par rapport à la face active de la puce biologique.

La présente invention concerne également un appareil d'analyse essentiellement constitué d'un contenant, d'un support de guidage et d'un moyen, qui peut être déformé, dit moyen de guidage ; le contenant, le support et le moyen délimitent un compartiment réactionnel de volume variable ; ledit support de guidage peut recevoir au moins un échantillon biologique à tester et au moins un réactif au niveau de sa face active tournée vers le compartiment réactionnel, le moyen de guidage déformé entraîne le rapprochement dudit moyen par rapport à la face active du support et permet la prise en compte et le déplacement d'un échantillon biologique à tester et/ou d'un réactif.

Sur tout ou partie de la face active de la puce biologique ou sur une partie de la surface active du support pour le guidage, la distance séparant le moyen de mixage ou de guidage de ladite face active de ladite puce ou dudit support de guidage, avant le rapprochement, est inférieur à 2 mm, préférentiellement inférieur à 1 mm, et la distance séparant le moyen de mixage ou de guidage de la face active de la puce ou du support

de guidage, après le rapprochement, est inférieur à 100 μm , préférentiellement inférieur à 10 μm , ou encore plus préférentiellement 1 μm .

Le rapprochement permet la convergence par capillarité de l'échantillon biologique à tester et/ou du liquide de lavage et/ou du réactif sur la surface active de la puce ou du support de guidage, sans contact entre le moyen de mixage ou de guidage et ladite surface active.

Quelque soit la variante de réalisation et préférentiellement, le rapport existant entre le volume du ou des échantillons biologiques à tester ou le liquide de lavage et/ou le ou les réactifs, introduit dans le compartiment réactionnel, et le volume dudit compartiment réactionnel est compris entre 1 pour 10000 et 1 pour 10, préférentiellement entre 1 pour 1000 et 1 pour 100.

De plus, dans le cas de l'appareil d'analyse permettant le mélange, les ligands sont constitués par des oligonucléotides et les analytes par des oligonucléotides et/ou des polynucléotides.

La présente invention concerne également un procédé permettant le mixage d'un échantillon biologique dans un appareil d'analyse, tel que décrit précédemment, qui consiste à :

- introduire l'échantillon dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- déplacer et/ou déformer au moins une fois le moyen de mixage,
- évacuer ledit échantillon dudit compartiment réactionnel,
- introduire un liquide de lavage dans le compartiment réactionnel,
- évacuer le liquide de lavage du compartiment réactionnel, et
- effectuer la lecture de la puce biologique, pour établir si des liaisons entre ligands et analytes sont intervenues.

La présente invention concerne aussi un procédé permettant le mixage d'un liquide de lavage dans un appareil d'analyse, tel que décrit précédemment, qui consiste à :

- introduire l'échantillon dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- évacuer ledit échantillon dudit compartiment réactionnel,
- introduire un liquide de lavage dans le compartiment réactionnel,
- déplacer et/ou déformer au moins une fois le moyen de mixage,

- évacuer le liquide de lavage du compartiment réactionnel, et
- effectuer la lecture de la puce biologique, pour établir si des liaisons entre ligands et analytes sont intervenues.

5 Il est encore possible de cumuler les deux dernières solutions pour obtenir un procédé permettant le mixage d'un échantillon biologique puis d'un liquide de lavage, dans un appareil d'analyse, tel que décrit précédemment, qui consiste à :

- introduire l'échantillon dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- déplacer et/ou déformer au moins une fois le moyen de mixage,
- évacuer ledit échantillon dudit compartiment réactionnel,
- 10 - introduire un liquide de lavage dans le compartiment réactionnel,
- déplacer et/ou déformer au moins une fois le liquide de lavage,
- évacuer le liquide de lavage du compartiment réactionnel, et
- effectuer la lecture de la puce biologique, pour établir si des liaisons entre ligands et analytes sont intervenues.

15 La présente invention concerne enfin un procédé permettant le guidage d'un échantillon biologique à tester et/ou d'un réactif dans un appareil d'analyse, tel que décrit plus haut, qui consiste à :

- introduire le ou les échantillons et/ou le ou les réactifs dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- 20 - déformer le moyen de guidage par l'intermédiaire d'un index jusqu'à prise en compte du ou des échantillons biologiques à tester et/ou du ou des réactifs, et
- déplacer l'index afin de déplacer ledit ou lesdits échantillons à tester et/ou ledit ou lesdits réactifs jusqu'à une autre position souhaitée.

25 Les figures ci-jointes sont données à titre d'exemple explicatif de deux modes de réalisation et n'ont aucun caractère limitatif. Elles permettront de mieux comprendre l'invention.

La figure 1 représente une vue en perspective d'un appareil d'analyse selon un premier mode de réalisation de l'invention.

30 La figure 2 représente une vue en coupe selon A-A de la figure 1, l'appareil d'analyse ne contenant aucun liquide.

La figure 3 représente une vue identique à la figure 2, lorsqu'un échantillon biologique à tester a été introduit en son sein, le moyen de mixage étant au repos.

La figure 4 représente une vue identique à la figure 3, lorsqu'un échantillon biologique à tester a été introduit en son sein, le moyen de mixage étant activé.

5 La figure 5 représente un détail B de la figure 4.

La figure 6 représente une vue identique à la figure 5, lorsque l'échantillon biologique à tester est remplacé par le liquide de lavage.

La figure 7 représente une vue en perspective d'un appareil d'analyse selon un second mode de réalisation de l'invention.

10 La figure 8 représente une vue identique à la figure 7, lorsqu'un échantillon biologique à tester est pris en compte par un moyen de guidage, qui est lui-même déformé sous l'action d'un index de guidage.

La figure 9 représente une vue identique aux figures 7 et 8, lorsque l'échantillon biologique à tester est pris en compte et est déplacé par un moyen de guidage.

15 Enfin, la figure 10 représente une vue de dessus du second mode de réalisation de l'invention.

La présente invention concerne donc, selon un premier mode de réalisation un appareil d'analyse 1 bien représenté sur la figure 1, dont la forme est sensiblement celle d'un parallélépipède à base carrée. De ce fait, cet appareil 1 comporte une paroi supérieure 13 ainsi qu'une paroi inférieure 14 mieux représentées sur les figures 2 à 4, et une paroi latérale 15 qui fait la liaison entre les parois supérieure 13 et inférieure 14, sur tout le pourtour dudit appareil 1. L'ensemble de ces parois 13, 14 et 15 constitue un contenant 2 monobloc. Néanmoins, il serait possible de le fabriquer en plusieurs parties et de les coller par la suite.

25 Les parois 13, 14 et 15 délimitent un espace intérieur de l'appareil 1, espace dans lequel les réactions biologiques et/ou les mouvements de fluide(s) vont pouvoir être effectué(e)s. Cet espace intérieur est appelé compartiment réactionnel 5. En fait, les parois supérieure 13 et inférieure 14 du contenant 2 comportent deux ouvertures situées en vis-à-vis l'une de l'autre, comme cela est bien représentée aux figures 2 à 4. La paroi supérieure 13 est fermée par l'intermédiaire d'une puce biologique 3 de structure

30

complexe, qui sera analysée par la suite. La paroi inférieure 14, pour sa part, est cloisonnée par un moyen de mixage 4. En général, la surface du moyen de mixage 4 est supérieur à la surface de la puce biologique 3.

5 En fait, les deux contacts possibles entre le compartiment réactionnel 5 et l'extérieur se situent sur l'un des côtés de la paroi latérale 15 et sont consistés par une entrée 11 et par une sortie 12. L'entrée 11 permet l'introduction selon F1 de liquide dans le compartiment 5, alors que la sortie 12 permet l'évacuation de ce liquide selon F2.

10 On remarque également que la paroi supérieure 13 est reliée à la puce biologique 3 par l'intermédiaire d'un rebord intérieur 17, alors que le moyen 4 est fixé à la paroi inférieure 14 par l'intermédiaire d'un rebord intérieur 18. L'objectif de ces rebords intérieurs 17 et 18 est de permettre un rapprochement sans contact, des surfaces intérieures en vis-à-vis, d'une part, de la puce biologique 3, et d'autre part, du moyen de mixage 4.

15 La puce biologique 3 est essentiellement constituée d'un support solide 7 qui constitue le corps de ladite puce 3. Ce support solide comporte une face tournée vers l'extérieur et une face tournée vers l'intérieur de l'appareil d'analyse 1. La face tournée vers l'extérieur constitue la face de lecture, son rôle est bien connu de l'état de la technique et ne sera pas discuté plus avant par la suite. La face tournée vers l'intérieur
20 constitue la face active 9 du support 7. Le terme « actif » est utilisé pour définir cette face 9 du fait qu'il existe une couche bio-spécifique présente sur cette face 9. C'est ce qui est bien représenté aux figures 5 et 6.

Ainsi, sont présents sur la face active 9 du support solide 7 de la puce biologique 3, des ligands 8 constitués, selon la représentation des figures 5 et 6, par des
25 oligonucléotides de capture. On note que ces oligonucléotides de capture 8 comportent tous une séquence spécifique 19, qui va permettre l'hybridation de ces ligands 8 avec des analytes 10 spécifiques qui sont présents dans un échantillon biologique à tester 6, présents au sein du compartiment réactionnel 5.

Il est à noter que la présence des analytes spécifiques 10 n'est pas toujours
30 évidente, et qu'il peut y avoir un mélange avec des analytes non spécifiques 20 également contenus dans cet échantillon 6 et qu'ils ne peuvent se lier avec les ligands 8,

c'est ce qui est bien représenté sur la figure 5. Il peut n'y avoir également que des analytes non spécifiques 20, dans ce cas il n'y aura aucune fixation au niveau des ligands 8.

Sur la figure 6, le liquide est constitué par un liquide de lavage 16, dans ce cas
5 les analytes non spécifiques 20, mais également les analytes spécifiques en excès par rapport au nombre de ligands 8 portés par la surface active 9 du support 7, sont éliminés par sortie selon F 2 du liquide de lavage 16, qui ainsi fait son office.

Qu'il s'agisse de la mise en contact des analytes 10 et/ou 20 avec les ligands 8 ou qu'il s'agisse du lavage par le liquide 16, on remarque que la quantité de liquide 6
10 ou 16 introduite au sein de l'appareil au niveau du compartiment réactionnel 5 est inférieure au volume total de ce compartiment réactionnel 5. Néanmoins, on pourrait réduire la taille dudit compartiment 5 sans aucun problème. On note sur la figure 3, que lorsque le liquide 6 ou 16 est introduit en faible quantité, il n'y a aucun contact entre ce
15 l'appareil 1 et n'avoir aucun contact entre le liquide 6 ou 16 et le moyen de mixage 4.

Quoiqu'il en soit sur la figure 3, le moyen de mixage 4 est au repos, c'est-à-dire qu'aucune pression n'est exercée sur lui. Sur la figure 4 par contre, une pression selon F3 est exercée sur ce moyen 4, ce qui permet le rapprochement sans contact dudit
20 moyen 4 et de la face active 9 de la puce biologique 3. Dans ce cas, l'écartement séparant la puce 3 et le moyen 4 est tel que le liquide 6 ou 16 présent autour va confluer entre ces deux parties 3 et 4 par simple capillarité.

Il y a bien sûr nécessité à ce qu'aucun contact ne soit établi entre la puce 3 et le moyen 4 afin de ne pas détériorer les ligands 8. Il convient de noter que l'épaisseur de la surface biospécifique, c'est-à-dire de la surface contenant les ligands 8 est très faible
25 de l'ordre de 50 à 60 nanomètres (nm), alors que l'épaisseur de l'espace entre la puce 3 et le moyen 4 est au maximum de 1 à 2 millimètres (mm), lorsque le moyen 4 est au repos et au minimum de 1 à 10 micromètres (μm), lorsque ce moyen 4 est activé par une pression selon F3.

Pour faciliter les choses, on remarque que la paroi latérale 15 associée avec la
30 paroi inférieure 14 et avec le rebord intérieur 18 constitue un récipient pour le liquide introduit qu'il s'agisse de l'échantillon à tester 6 ou du liquide de lavage 16. De ce fait,

lorsque l'on rapproche le moyen 4 de la puce 3 par capillarité le liquide peut plus aisément venir au contact de la surface active 9 de ladite puce biologique 3.

Il convient de noter également que préférentiellement le liquide 6 ou 16 est présent sur le moyen de mixage 4, lorsque ce moyen de mixage 4 est au repos, de sorte
5 que le rapprochement va mettre en contact le liquide 6 ou 16 avec l'espace réduit existant entre la puce 3 et le moyen 4. C'est ce que représente la figure 3.

La présente invention concerne donc également un procédé permettant soit le mixage d'un échantillon biologique 6, soit le mixage d'un liquide de lavage 16. Il peut
10 s'agir également d'un procédé permettant à la fois le mixage d'un échantillon biologique 6 et ultérieurement d'un liquide de lavage 16.

Le procédé est constitué des étapes communes pour ces deux procédés suivantes :

- l'introduction de l'échantillon 6 dans le compartiment réactionnel 5 de l'appareil 1,
- 15 - l'évacuation dudit échantillon 6 par rapport au compartiment réactionnel 5, après que l'hybridation entre les ligands 8 et les analytes 10 ait eu lieu
- l'introduction d'un liquide de lavage 16 dans le compartiment réactionnel 5,
- l'évacuation dudit liquide de lavage 16 par rapport au compartiment réactionnel 5, et enfin
- 20 - la lecture de la puce biologique 3 pour établir si des liaisons entre des ligands 8 et analytes 8 sont intervenues.

Si l'on utilise une puce 3 dont la surface active 9 comporte plusieurs zones de reconnaissance, c'est-à-dire que chaque zone de reconnaissance est associée à un seul type de ligands 8, ayant les mêmes séquences spécifiques 19, en fonction de la nature
25 des ligands constituant la couche bio-spécifique, et des zones d'hybridation, on peut déterminer la nature des analytes 10 présents dans l'échantillon biologique 6.

Dans le cas du mixage d'un échantillon biologique 6, on effectue après la première introduction de l'échantillon 6 un déplacement et/ou une déformation du moyen de mixage 4. Dans le cas du mixage du liquide de lavage 16, on effectue après la
30 deuxième introduction du liquide de lavage 16 un déplacement et / ou une déformation du moyen de mixage 4. Il est également possible comme cela a été évoqué

précédemment d'accomplir les deux déplacement(s) et/ou déformation(s) du moyen de mixage 4 après les deux introductions, d'une part, de l'échantillon 6, d'autre part, du liquide de lavage 16.

Selon les figures 4, 5 et 6, on comprend que le moyen de mixage 4 est dans ce mode de réalisation déformé, c'est-à-dire qu'il s'agit d'une matière souple, par exemple un film plastique ou polymère ou métallique, ou même une lame de verre très fine c'est-à-dire d'épaisseur inférieure à 1 mm, et préférentiellement inférieure à 0,5 mm. Néanmoins il est tout à fait concevable que ce moyen 4 soit d'une souplesse faible voir nulle, et qu'il y ait nécessité alors pour avoir un phénomène de capillarité de déplacer le moyen de mixage 4 au plus près de la surface active 9 de la puce biologique 3. Dans ce cas, il convient d'avoir des moyens d'articulation présents sur tout le pourtour du moyen de mixage 4 pour le déplacer en direction de la puce 3. L'homme du métier est apte à établir quels types de moyens peuvent être utilisés, il peut par exemple s'agir d'un rebord en une matière élastique souple conférant à la partie rigide centrale, c'est-à-dire au moyen 4, la possibilité de se déplacer sous l'action de F3. Il peut par exemple s'agir d'un joint périphérique en silicone ou d'un parallélogramme qui peut être déformé.

Selon un second mode réalisation de l'invention, représenté sur les figures 7 à 10, un appareil d'analyse 21 permettant le déplacement d'au moins un liquide, tel qu'un échantillon biologique à tester 26 et/ou un réactif 27, est représenté.

A l'instar du mode de réalisation précédent, cet appareil 21 est en forme sensiblement de parallélépipède à base carrée. De ce fait, il 21 comporte une paroi supérieure ainsi qu'une paroi inférieure, et une paroi latérale qui fait la liaison entre les parois supérieure et inférieure, sur tout le pourtour dudit appareil 21. L'ensemble de ces parois constitue un contenant 22 monobloc, qui peut néanmoins être fabriqué en plusieurs parties et être collé par la suite.

Les parois délimitent un espace intérieur de l'appareil 21, espace dans lequel les réactions biologiques et/ou les mouvements de fluide(s) vont pouvoir être effectué(e)s. Cet espace intérieur est appelé compartiment réactionnel 25. En fait, la paroi supérieure du contenant 22 comporte une ouverture, comme cela est bien représentée aux figures 7

à 9. La paroi supérieure est fermée par l'intermédiaire d'un moyen de guidage 24 constitué d'une membrane qui peut être déformée. La paroi inférieure, pour sa part, constitue un support de guidage 23 cloisonné par le moyen de guidage 24.

5 De la même façon que pour le premier mode de réalisation, les deux contacts possibles entre le compartiment réactionnel 25 et l'extérieur se situent sur l'un des côtés de la paroi latérale et sont consistés par une entrée et par une sortie, non représentée sur les figures, mais qui fonctionnent de la même manière que précédemment décrit.

Le support de guidage 23, cloisonné par le moyen de guidage 24, comporte une face active 29, située en vis-à-vis dudit moyen de guidage 24.

10 Quoiqu'il en soit sur la figure 7, le moyen de guidage 24 est au repos, c'est-à-dire qu'aucune pression n'est exercée sur lui. Sur les figures 8 et 9 par contre, une pression selon F3 est exercée sur ce moyen 4, ce qui permet le rapprochement sans contact dudit moyen 24 et de la face active 29 du support de guidage 23. Dans ce cas, l'écartement séparant le support 23 et le moyen 24 est tel qu'un liquide 26 ou 27
15 présent autour va confluer entre ces deux parties 23 et 24 par simple capillarité.

Il est préférable mais non obligatoire qu'aucun contact ne soit établi entre la face active 29 et le moyen de guidage 24. Il convient de noter que l'épaisseur de l'espace entre le support 23 et le moyen 24 est au maximum de 1 à 2 millimètres (mm), lorsque le moyen 24 est au repos et au minimum de 1 à 10 micromètres (μm), lorsque ce moyen
20 24 est déformé par une pression selon F3.

Selon la figure 10, on constate que sur un seul support peuvent être présents plusieurs échantillons biologiques à tester 26 et plusieurs réactifs 27. Il est également possible de mouvoir ces échantillons 26 et/ou réactifs 27 les uns vers les autres afin de réaliser les réactions biologiques que l'on souhaite réaliser. Ce mouvement est réalisé
25 par l'intermédiaire d'un index de guidage 28, il pourrait également y avoir plusieurs index 28, qui est mobile selon trois axes sensiblement perpendiculaires les uns par rapport aux autres.

Ce premier mouvement est représenté sur les figures 7 et 8, il est identique au mouvement représenté sur la figure 3. Il s'agit d'une pression exercée au niveau du
30 moyen de guidage 24. Cette pression selon F3 permet sur la figure 8 la prise en compte de l'échantillon 26, et sur la figure 9 le déplacement dudit échantillon 26.

Ce déplacement peut d'ailleurs être effectué par exemple, mais non de manière limitative, selon deux axes. Ainsi sur la figure 10, on remarque que le mouvement de l'index 28, non représenté sur cette figure, s'effectue selon F4, c'est-à-dire selon l'axe des X sur le support de guidage 23, alors que le mouvement dudit index 28 s'effectue
5 selon l'axe des Y sur ce support de guidage 23.

Il est également possible de mouvoir les réactifs 27, ou conjointement au moins un échantillon 26 et au moins un réactif 27. L'utilisation de plusieurs index 28 est également possible. Les mouvements selon F3, F4 ou F5 sont réalisés par tous moyens connus de l'état de la technique.

REFERENCES

1. Appareil d'analyse
2. Contenant
3. Puce biologique
- 5 4. Moyen de mixage
5. Compartiment réactionnel
6. Echantillon biologique à tester
7. Support solide de la puce biologique 3
8. Ligands portés par la face active 9
- 10 9. Face active du support 7
10. Analytes spécifiques contenus dans l'échantillon 6 se liant aux ligands 8
11. Entrée permettant l'introduction de liquide dans le compartiment 5
12. Sortie permettant l'évacuation de liquide du compartiment 5
13. Paroi supérieure du contenant 2
- 15 14. Paroi inférieure du contenant 2
15. Paroi latérale du contenant 2
16. Liquide de lavage
17. Rebord intérieur de la paroi supérieure 13 portant la puce 3
18. Rebord intérieur de la paroi inférieure 14 portant le moyen 4
- 20 19. Séquence spécifique de chaque analyte spécifique 10
20. Analytes non spécifiques contenus dans l'échantillon 6 ne se liant pas aux ligands 8
21. Appareil d'analyse
22. Contenant
23. Support de guidage
- 25 24. Moyen de guidage
25. Compartiment réactionnel
26. Echantillon biologique à tester
27. Réactif
28. Index de guidage
- 30 29. Face active du support 23
- F1. Introduction de l'échantillon à tester 6 ou du liquide de lavage 16 dans l'appareil 1

- F2. Sortie de l'échantillon à tester 6 ou du liquide de lavage 16 de l'appareil 1
- F3. Pression exercée au niveau du moyen de mixage 4 ou du moyen de guidage 24
- F4. Mouvement de l'index 28 selon l'axe des X sur le support de guidage 23
- F5. Mouvement de l'index 28 selon l'axe des Y sur le support de guidage 23

REVENDICATIONS

1. Appareil d'analyse (1) essentiellement constitué d'un contenant (2), d'une
5 puce biologique (3) et d'un moyen, qui peut être déplacé et/ou déformé, dit moyen de
mixage (4), le déplacement et/ou la déformation entraîne(nt) le rapprochement du
moyen de mixage (4) par rapport à la puce biologique (3) ; le contenant (2), la puce (3)
et le moyen (4) délimitent un compartiment réactionnel (5) de volume variable, pouvant
recevoir un échantillon biologique à tester (6) ou un liquide de lavage (16), la quantité
10 de liquide (6 ou 16) introduite au sein de l'appareil au niveau du compartiment
réactionnel (5) est inférieure au volume total de ce compartiment réactionnel (5) ; la
puce (3) étant constituée d'un support solide (7) qui comporte des ligands (8) sur sa
face active (9) tournée vers le compartiment réactionnel (5), les ligands (8) peuvent être
spécifiques d'analytes (10) présents dans l'échantillon biologique à tester (6).

15

2. Appareil, selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le moyen de
mixage (4) est de structure solide ou de structure souple et peut être déplacé et/ou
déformé, ce qui entraîne la variation du volume du compartiment réactionnel (5).

20

3. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé par le
fait que le moyen de mixage (4) de structure solide peut être déplacé, et que le moyen
de mixage (4) de structure souple peut être déformé.

25

4. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé par le
fait que le déplacement et/ou la déformation entraîne(nt) le rapprochement du moyen de
mixage (4) par rapport à la face active (9) de la puce biologique (3).

30

5. Appareil d'analyse (21) essentiellement constitué d'un contenant (22), d'un
support de guidage (23) et d'un moyen, qui peut être déformé, dit moyen de
guidage (24) ; le contenant (22), le support (23) et le moyen (24) délimitent un
compartiment réactionnel (25) de volume variable ; ledit support de guidage (23) peut

recevoir au moins un échantillon biologique à tester (26) et au moins un réactif (27) au niveau de sa face active (29) tournée vers le compartiment réactionnel (25), le moyen de guidage (24) déformé entraîne le rapprochement dudit moyen (24) par rapport à la face active (29) du support (23) et permet la prise en compte et le déplacement d'un échantillon biologique à tester (26) et/ou d'un réactif (27).

6. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 4 ou 5, caractérisé par le fait que, sur tout ou partie de la face active (9 ou 29) de la puce biologique (3) ou du support (23), la distance séparant le moyen de mixage (4) ou de guidage (24) de ladite face active (9 ou 29) de ladite puce (3) ou dudit support de guidage (23), avant le rapprochement, est inférieur à 2 mm, préférentiellement inférieur à 1 mm, et que la distance séparant le moyen de mixage (4) ou de guidage (24) de la face active (9 ou 29) de la puce (3) ou du support de guidage (23), après le rapprochement, est inférieur à 100 μ m, préférentiellement inférieur à 10 μ m, ou encore plus préférentiellement 1 μ m.

7. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisé par le fait que le rapprochement permet la convergence par capillarité de l'échantillon biologique à tester (6 ou 26) et/ou du liquide de lavage (16) et/ou du réactif (27) sur la surface active (9 ou 29) de la puce (3) ou du support de guidage (23), sans contact entre le moyen de mixage (4) ou de guidage (24) et ladite surface active (9 ou 29).

8. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait que le rapport existant entre le volume du ou des échantillons biologiques à tester (6 ou 26) ou le liquide de lavage (16) et/ou le ou les réactifs (27), introduit dans le compartiment réactionnel (5 ou 25), et le volume dudit compartiment réactionnel (5 ou 25) est compris entre 1 pour 10000 et 1 pour 10, préférentiellement entre 1 pour 1000 et 1 pour 100.

9. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou 6 à 8, caractérisé par le fait que les ligands (8) sont constitués par des oligonucléotides et les analytes (10) par des oligonucléotides et/ou des polynucléotides.

10. Procédé permettant le mixage d'un échantillon biologique dans un appareil d'analyse, selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou 6 à 9, qui consiste à :

- introduire l'échantillon dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- 5 - déplacer et/ou déformer au moins une fois le moyen de mixage,
- évacuer ledit échantillon dudit compartiment réactionnel,
- introduire un liquide de lavage dans le compartiment réactionnel,
- évacuer le liquide de lavage du compartiment réactionnel, et
- effectuer la lecture de la puce biologique, pour établir si des liaisons entre ligands et
- 10 analytes sont intervenues.

11. Procédé permettant le mixage d'un liquide de lavage dans un appareil d'analyse, selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou 6 à 9, qui consiste à :

- introduire l'échantillon dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- 15 - évacuer ledit échantillon dudit compartiment réactionnel,
- introduire un liquide de lavage dans le compartiment réactionnel,
- déplacer et/ou déformer au moins une fois le moyen de mixage,
- évacuer le liquide de lavage du compartiment réactionnel, et
- effectuer la lecture de la puce biologique, pour établir si des liaisons entre ligands et
- 20 analytes sont intervenues.

12. Procédé permettant le guidage d'au moins un échantillon biologique à tester et/ou d'au moins un réactif dans un appareil d'analyse, selon l'une quelconque des revendications 5 à 9, qui consiste à :

- 25 - introduire le ou les échantillons et/ou le ou les réactifs dans le compartiment réactionnel de l'appareil,
- déformer le moyen de guidage par l'intermédiaire d'un index jusqu'à prise en compte du ou des échantillons biologiques à tester et/ou du ou des réactifs, et
- déplacer l'index afin de déplacer ledit ou lesdits échantillons à tester et/ou ledit ou
- 30 lesdits réactifs jusqu'à une autre position souhaitée.

1 / 2

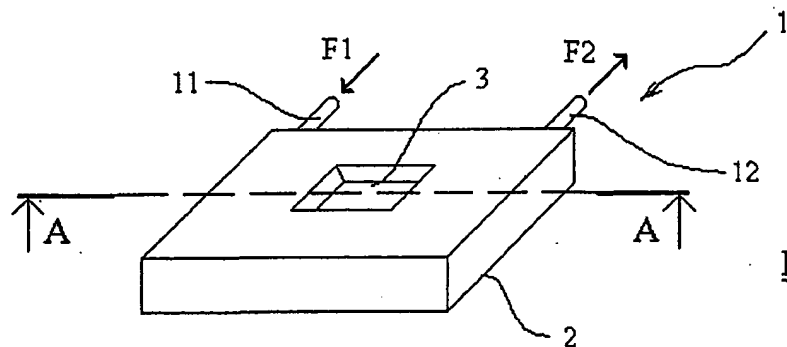


Fig. 1

Coupe A-A

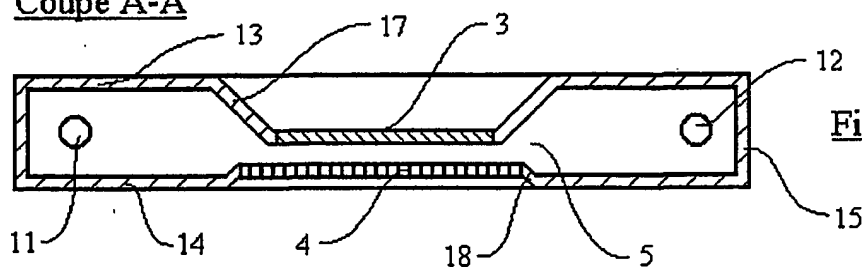


Fig. 2

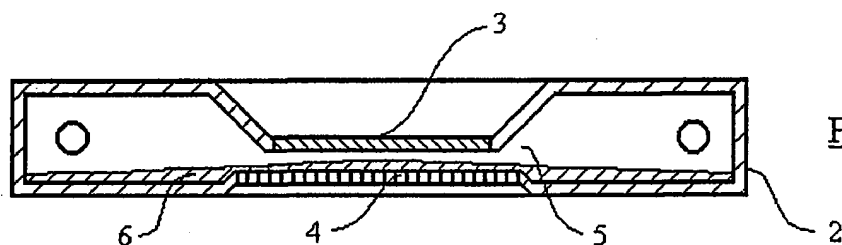


Fig. 3

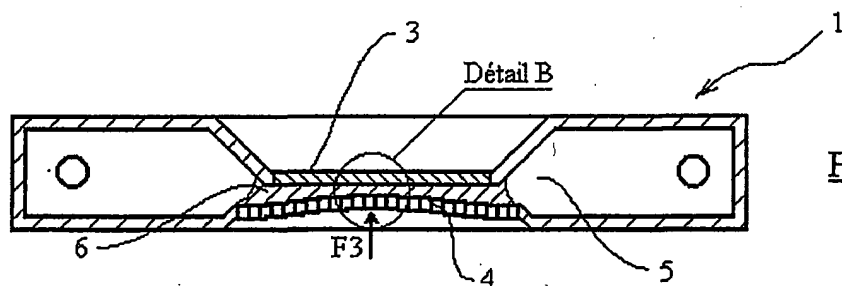


Fig. 4

Détail B

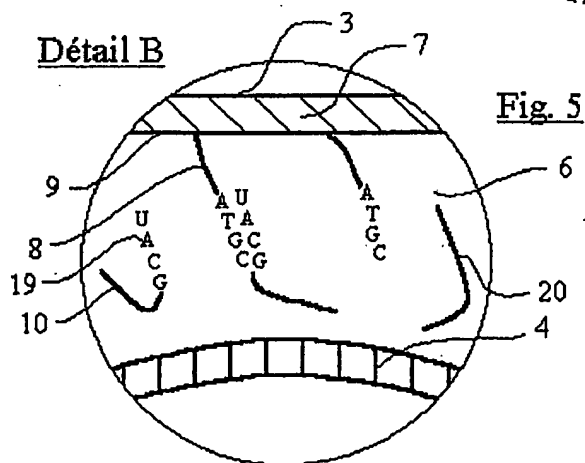


Fig. 5

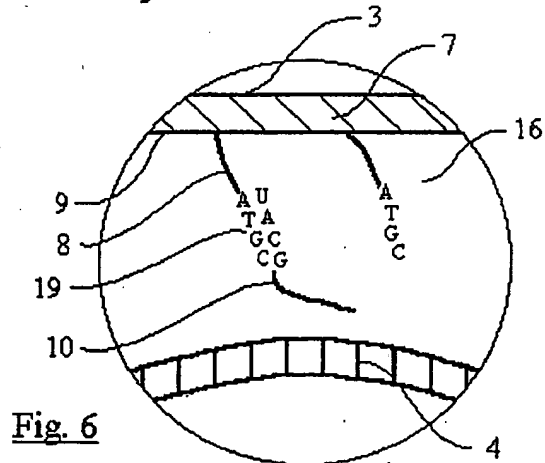


Fig. 6

2 / 2

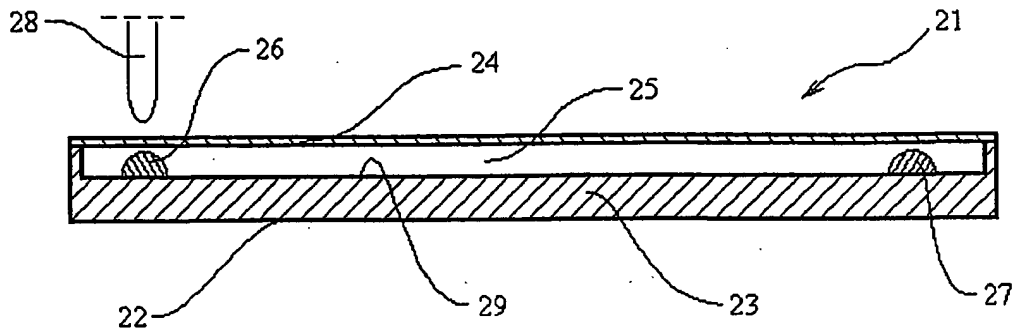


Fig. 7

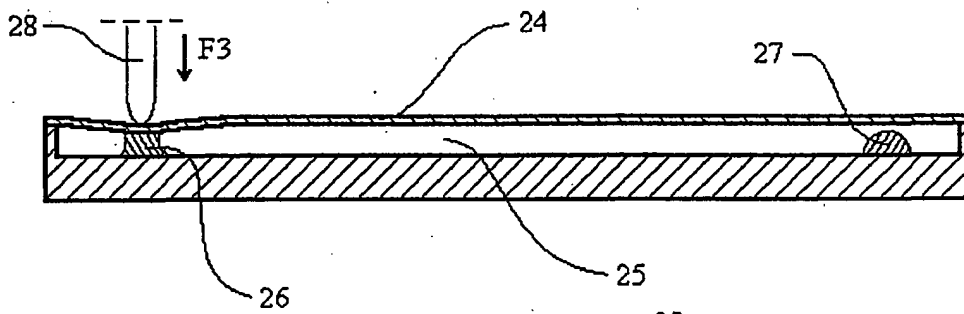


Fig. 8

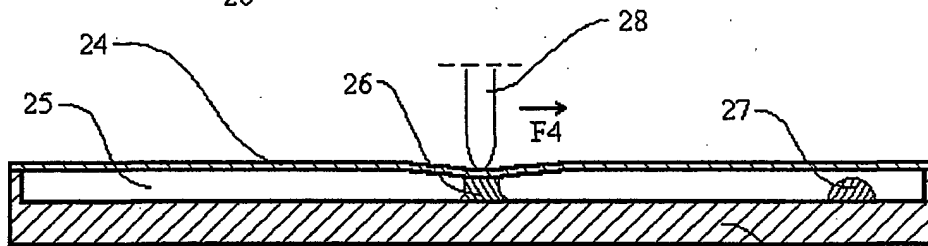


Fig. 9

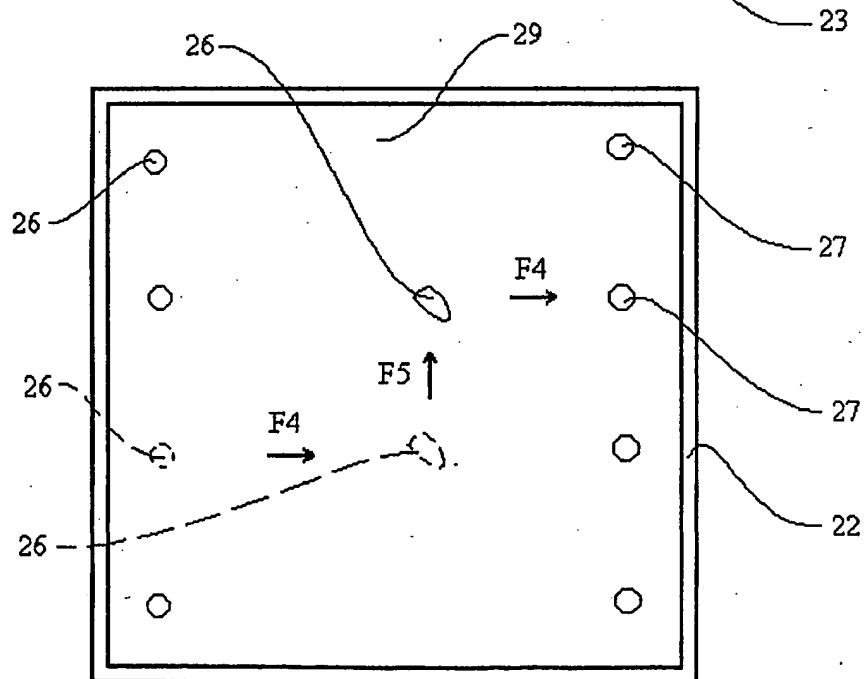


Fig. 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/03705

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 B01L3/00 B01F11/00 B01F13/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L B01F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EP0-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 891 811 A (HEWLETT PACKARD CO) 20 January 1999 (1999-01-20) column 1, line 14 - line 37 column 2, line 51 - column 3, line 15 column 8, line 26 - line 50 column 12, line 29 - line 45 column 11, line 34 - line 53	1-4, 9
X	column 12, line 5 - line 25	10, 11
A	US 5 658 723 A (OBERHARDT BRUCE) 19 August 1997 (1997-08-19) column 23, line 6 - column 24, line 22; figures 31-34 column 25, line 22 - line 28 -/-	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 April 2001

Date of mailing of the international search report

25/04/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No

PCT/FR 00/03705

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 4 007 010 A (WOODBRIIDGE III RICHARD G) 8 February 1977 (1977-02-08) column 4, line 41 -column 5, line 56; figures column 16, line 59 -column 17, line 34 -----	5 12
X	US 5 856 174 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 5 January 1999 (1999-01-05) column 2, line 16 - line 35 column 2, line 54 - line 57 column 25, line 59 - line 65; figures 7A, 7B column 31, line 26 - line 45; figure 7B -----	1-4, 9
A	EP 0 695 941 A (AFFYMAX TECH NV) 7 February 1996 (1996-02-07) cited in the application column 1, line 5 - line 53	1
X	column 14, line 1 - line 29 column 7, line 16 - line 23; figures 3, 6 column 19, line 3 -column 20, line 45; figures 29, 30 -----	10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/03705

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0891811	A	20-01-1999	US 5910288 A	08-06-1999
US 5658723	A	19-08-1997	US 4849340 A	18-07-1989
			US 6197494 B	06-03-2001
			AT 120543 T	15-04-1995
			AU 613623 B	08-08-1991
			AU 1591888 A	02-11-1988
			CA 1310566 A	24-11-1992
			DE 3853457 D	04-05-1995
			DE 3853457 T	26-10-1995
			EP 0308494 A	29-03-1989
			JP 1502797 T	28-09-1989
			JP 2736091 B	02-04-1998
			WO 8807666 A	06-10-1988
			US 5110727 A	05-05-1992
US 4007010	A	08-02-1977	US 4065263 A	27-12-1977
US 5856174	A	05-01-1999	AU 6404996 A	05-02-1997
			EP 0843734 A	27-05-1998
			JP 11509094 T	17-08-1999
			WO 9702357 A	23-01-1997
			US 6043080 A	28-03-2000
			US 5922591 A	13-07-1999
EP 0695941	A	07-02-1996	AU 2943695 A	04-01-1996
			EP 0764214 A	26-03-1997
			JP 8166387 A	25-06-1996
			JP 10505410 T	26-05-1998
			WO 9533846 A	14-12-1995
			US 5945334 A	31-08-1999
			US 6140044 A	31-10-2000

Den Internationale No
PCT/FR 00/03705

CIB 7 B01L3/00 B01F11/00 B01F13/00

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

CIB 7 B01L B01F

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

EPO-Internal

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 891 811 A (HEWLETT PACKARD CO) 20 janvier 1999 (1999-01-20) colonne 1, ligne 14 - ligne 37 colonne 2, ligne 51 - colonne 3, ligne 15 colonne 8, ligne 26 - ligne 50 colonne 12, ligne 29 - ligne 45 colonne 11, ligne 34 - ligne 53	1-4, 9
X	colonne 12, ligne 5 - ligne 25	10, 11
A	US 5 658 723 A (OBERHARDT BRUCE) 19 août 1997 (1997-08-19) colonne 23, ligne 6 - colonne 24, ligne 22; figures 31-34 colonne 25, ligne 22 - ligne 28	1-4
	—/—	

Y Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

*T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinente, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.

***&** document qui fait partie de la même famille de brevets

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/04/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Hocquet, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De internationale No
PCT/FR 00/03705

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 4 007 010 A (WOODBRIIDGE III RICHARD G) 8 février 1977 (1977-02-08)	5
A	colonne 4, ligne 41 - colonne 5, ligne 56; figures colonne 16, ligne 59 - colonne 17, ligne 34	12
X	US 5 856 174 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 5 janvier 1999 (1999-01-05) colonne 2, ligne 16 - ligne 35 colonne 2, ligne 54 - ligne 57 colonne 25, ligne 59 - ligne 65; figures 7A, 7B colonne 31, ligne 26 - ligne 45; figure 7B	1-4, 9
A	EP 0 695 941 A (AFFYMAX TECH NV) 7 février 1996 (1996-02-07) cité dans la demande colonne 1, ligne 5 - ligne 53	1
X	colonne 14, ligne 1 - ligne 29 colonne 7, ligne 16 - ligne 23; figures 3, 6 colonne 19, ligne 3 - colonne 20, ligne 45; figures 29, 30	10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De ... nternationale No

PCT/FR 00/03705

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0891811 A	20-01-1999	US 5910288 A	08-06-1999
US 5658723 A	19-08-1997	US 4849340 A	18-07-1989
		US 6197494 B	06-03-2001
		AT 120543 T	15-04-1995
		AU 613623 B	08-08-1991
		AU 1591888 A	02-11-1988
		CA 1310566 A	24-11-1992
		DE 3853457 D	04-05-1995
		DE 3853457 T	26-10-1995
		EP 0308494 A	29-03-1989
		JP 1502797 T	28-09-1989
		JP 2736091 B	02-04-1998
		WO 8807666 A	06-10-1988
		US 5110727 A	05-05-1992
US 4007010 A	08-02-1977	US 4065263 A	27-12-1977
US 5856174 A	05-01-1999	AU 6404996 A	05-02-1997
		EP 0843734 A	27-05-1998
		JP 11509094 T	17-08-1999
		WO 9702357 A	23-01-1997
		US 6043080 A	28-03-2000
		US 5922591 A	13-07-1999
EP 0695941 A	07-02-1996	AU 2943695 A	04-01-1996
		EP 0764214 A	26-03-1997
		JP 8166387 A	25-06-1996
		JP 10505410 T	26-05-1998
		WO 9533846 A	14-12-1995
		US 5945334 A	31-08-1999
		US 6140044 A	31-10-2000

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.